

260603

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 18 JUL 2003

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2003年 1月17日

出 願 番 号

Application Number:

特願2003-010426

[ ST.10/C ]:

[ JP2003-010426 ]

出 願 人

Applicant(s):

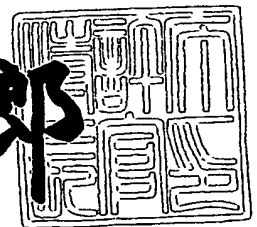
サントリー株式会社

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 6月 5日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



BEST AVAILABLE COPY

出証番号 出証特2003-3043815

【書類名】 特許願

【整理番号】 SN365

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1 サントリー株式  
会社研究センター内

【氏名】 諏訪 芳秀

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1 サントリー株式  
会社研究センター内

【氏名】 藤居 互

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1 サントリー株式  
会社研究センター内

【氏名】 堀 妃佐子

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町山崎 5-2-5 サントリー株式会  
社技術開発センター内

【氏名】 横尾 芳明

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県清水市草薙杉道 1-5-5

【氏名】 糠谷 東雄

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県静岡市池田 1375-11

【氏名】 辻 邦郎

【特許出願人】

【識別番号】 000001904

【氏名又は名称】 サントリー株式会社

【代理人】

【識別番号】 100083301

【弁理士】

【氏名又は名称】 草間 攻

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 特願2002-186029

【出願日】 平成14年 6月26日

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 053958

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9717858

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 消化管運動促進飲食物

【特許請求の範囲】

【請求項1】 炭素原子、水素原子、酸素原子および窒素原子を含む分子量550を有する物質であり、機器分析データとして、  
図8に示す $^1\text{H}$ -NMRスペクトル（溶媒： $\text{CD}_3\text{OD}$ ）を示し、  
図10に示す $^{13}\text{C}$ -NMRスペクトル（溶媒： $\text{CD}_3\text{OD}$ ）を示し、  
図6に示す紫外線吸収スペクトルを示す物質。

【請求項2】 炭素原子、水素原子、酸素原子および窒素原子を含む分子量550を有する物質であり、機器分析データとして、  
図7に示す質量分析スペクトルを示し、  
図9に示す $^1\text{H}$ -NMRスペクトル（溶媒： $\text{D}_2\text{O}$ ）を示し、  
図11に示す $^{13}\text{C}$ -NMRスペクトル（溶媒： $\text{D}_2\text{O}$ ）を示し、  
図6に示す紫外線吸収スペクトルを示す物質。

【請求項3】 ビールから単離された請求項1または2に記載の物質。

【請求項4】 ビールからの単離法が、ビールを凍結乾燥させ、該凍結乾燥物を水溶液に溶解させ、合成吸着剤を用いたカラムクロマトグラフィーに吸着させた後、得られたメタノール溶出部を、陽イオン交換樹脂を用いたカラムクロマトグラフィーにより吸着処理し、酸性メタノール水溶液にて溶出し、得られた溶出部をゲル濾過クロマトグラフィーにより分画し、さらに、ODS-HPLC（ $\text{C}_{18}$ -高速液体クロマトグラフィー）により高度精製を行う単離法である請求項3に記載の物質。

【請求項5】 酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物から単離された請求項1または2に記載の物質。

【請求項6】 発芽した大麦の分画物が、麦芽根である請求項5に記載の物質。

【請求項7】 ムスカリン $\text{M}_3$ 受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質。

【請求項8】 ムスカリン $\text{M}_3$ 受容体を介した作用が、消化管運動促進、胃

酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用およびドリンカビリティー促進である請求項7に記載の物質。

【請求項9】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質、該物質を含む天然物または天然物加工品を含有することを特徴とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品または動物用飼料。

【請求項10】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質を含む天然物または天然物加工品が、麦芽根である請求項9に記載の飲食物、飲食物添加剤、医薬品または動物用飼料。

【請求項11】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質、当該物質を含む天然物または天然物加工品を含有することを特徴とするムスカリンM<sub>3</sub>受容体を介した促進作用を有する組成物。

【請求項12】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体を介した促進作用が、消化管運動促進、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用およびドリンカビリティー促進である請求項11に記載の組成物。

【請求項13】 消化管運動促進剤および／またはドリンカビリティー促進剤である請求項11に記載の組成物。

【請求項14】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質を含む天然物または天然物加工品が、麦芽根である請求項11ないし13のいずれかに記載の組成物。

【請求項15】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質、当該物質を含有する天然物、天然物加工品または組成物を添加した飲食物。

【請求項16】 アルコール飲料またはノンアルコール飲料である請求項15に記載の飲食物。

【請求項17】 飲食物中のムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質の含有量が、最終製品当たり0.01mg～1.00mg/Lである請求項16に記載のアルコール飲料またはノンアルコール飲料。

【請求項18】 健康食品および／または特別用途食品である請求項15に記載の飲食物。

【請求項19】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質、当該物質を含有する天然物、天然物加工品および組成物を含有する飲食物添加剤または医薬品。

【請求項20】 消化管運動促進、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用またはドリンカビリティー促進性の、飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料、あるいは、消化管運動促進剤またはドリンカビリティー促進剤を製造するための、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する請求項1ないし6のいずれかに記載の物質、当該物質を含有する天然物、天然物加工品および組成物の使用。

【請求項21】 ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進物質を含む天然物または天然物加工品が、酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物であることを特徴とする請求項20の使用。

【請求項22】 麦芽発酵飲料である請求項15記載の飲食物。

【請求項23】 麦芽飲料飲料がビールまたは発泡酒である請求項22記載の飲食物。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

##### 【発明の属する技術分野】

本発明は、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する新規物質に関し、詳細には、消化管運動促進作用、胃酸分泌促進、排尿促進、食欲増進作用あるいはドリンカビリティー促進作用等を有する新規な物質に関する。

また本発明は、当該新規物質それ自体、あるいは当該物質を含有する天然物または天然物加工品、あるいは組成物を利用した各種飲食物に関し、特に、消化管運動促進作用またはドリンカビリティー促進作用を利用した飲食物に関する。

##### 【0002】

##### 【従来の技術】

ヒトが摂取した食物は、消化器系の各部で種々の消化を受け、栄養素の大部分が小腸で吸収されたのち、排泄されている。これらの消化・吸収作用が順序よく行われるためには、食物をその消化の状態に応じて順次消化器系の中を移動させる必要がある。すなわち、消化管運動は食物消化のために内容物の輸送、貯蔵、

攪拌・混和、そして排出に至る消化のプロセスの進行をつかさどる重要な生理機能である。

### 【0003】

消化管の内容物は、消化管壁を構成する平滑筋の規則正しい収縮運動（蠕動運動）により行われており、このような消化管運動は、神経性および体液性の調節を受けている。神経性調節には自律神経系の二重支配と、消化管壁内神経の支配が存在するが、その主体はコリン作動性の副交感神経節後繊維である。一方、体液性調節は消化管ホルモンによるものである。

### 【0004】

これらの調節機構のバランスが乱れ、消化管運動機能に障害が生じると、消化のプロセスの各段階での障害が引き起こされ、その結果、嚥下困難、むねやけ、悪心、嘔吐、腹痛、腹部膨満、下痢、便秘などの消化器症状が出現する。特に、近年のストレス過多の社会において、潰瘍や癌などの器質的な病変が認められないにも拘わらず、このような消化器症状を訴えるという症例が増えてきている。従来、わが国ではこの疾患は慢性胃炎とされ、治療に明確な指針がなかったが、消化器病の診断学の進歩により、こうした症例の多くは、胃内容物の排出遅延を中心とした消化管運動機能異常が原因であることが明らかになり、胃炎とは明確に区別してfunctional dyspepsia（機能性ディスペプシア）あるいはnon-ulcer dyspepsia (NUD) と呼ばれるようになってきている。また、高齢者において胃壁の筋肉の緊張性が減弱することによって生ずる胃アトニー症や、神経性消化不良、胃神経症などの精神心理学的要因による症状もこの疾患に含まれる。さらに、術後の消化管運動の低下症状や、抗ガン剤の投与による食欲不振なども、近年問題となってきている。

### 【0005】

近年、消化管運動に関わる受容体の研究が進み、消化管運動の神経性調節機構の詳細が明らかになってきた。大部分の消化管の運動は主に副交感神経の節後繊維である壁内コリン作動性神経によって調節されている。この神経終末より放出されるアセチルコリンが平滑筋のムスカリンM<sub>3</sub>受容体に結合して平滑筋の収縮を引き起こし、このアセチルコリンがコリンエステラーゼで分解されると、平滑

筋は元に戻る。この収縮と回復の反復頻度が高まると運動が促進されることになる。

#### 【0006】

したがって、ムスカリン $M_3$ 受容体アゴニストとして作用する物質は、消化管平滑筋を収縮させ、消化管運動を促進させることとなり、消化管運動機能の低下に基づく消化器症状の改善を促し、極めて有効な消化管運動促進作用物質となる。

#### 【0007】

ところで、飲食物の中でもアルコール含有飲料は、上部消化管の運動性に影響を及ぼすことが知られている。例えば、Pfeifferら (Clin. Investig. Vol.70, pp487-491, 1992) は、ビールが胃排出を促進させ、胃-盲腸通過時間を短縮させること、逆に、ビールと同程度の濃度 (7.5%) のエタノールは胃排出を抑制することを報告している。また、胃排出の速いビールほどドリンカビリティーが高いことを示す興味深い報告もある (Biosci. Biotechnol. Biochem. Vol.62, pp846-851, 1998)。

#### 【0008】

ビールのドリンカビリティーとは、ビールを多く飲んでもまだおいしく飲める性質のことをいい、ヨーロッパではバイタートリンケンあるいはドリンカビリティーと呼ばれ、ビールの評価を決める重要な要因の一つとされている。したがって上記した研究結果から、ビールには消化管運動促進作用、あるいはドリンカビリティー促進作用物質が含有されており、その作用はアルコール成分以外の物質に由来するものと考えられていたが、かかる活性物質については未だ明らかとなっておらず、その特定が望まれていた。

#### 【0009】

先に本発明者らは、ビールの乾燥物に胃排出促進作用があることをマウスにおいて実証し、さらに、受容体結合性試験やモルモット回腸縦走筋の収縮性試験によってビール乾燥物の作用メカニズムについて検討した結果、ビール乾燥物はムスカリン $M_3$ 受容体を刺激することによって消化管運動を促進することを明らかにした (Alcoholism: Clinical & Experimental Research, Vol.26, No.5, pp 6



77-681, 2002)。

【0010】

したがって、ビール中に含有される消化管運動促進物質、あるいはドリンカビリティー促進物質を特定し、かかる物質を提供することは、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する物質として、消化管運動促進作用、ドリンカビリティー促進作用、胃酸分泌促進、排尿促進あるいは食欲増進作用等を有する物質の提供につながり、極めて有用なことである。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】

すなわち本発明は、ビールからムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する活性本体、すなわち、消化管運動促進作用の活性本体を単離して物質を特定すると共に、かかる物質を各種機能性飲食物に応用させ、かかる消化管運動促進物質を利用した消化管運動促進作用剤、胃酸分泌促進作用剤、排尿促進作用剤、食欲増進作用剤およびドリンカビリティー促進剤等を提供することを課題とする。

【0012】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の課題を解決するべく鋭意研究を重ね、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体への結合活性を指標として、ビール中から消化管運動促進物質の精製を試みた。その結果、ビールから、計4ステップの液体クロマトグラフィーにより、最終的に、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体への結合活性物質を2種（活性物質α、および活性物質β）単離することができた。

【0013】

そして、それぞれの活性物質αおよび活性物質βについて、紫外吸収スペクトル、質量分析スペクトル、および核磁気共鳴スペクトルデータ等による解析で、活性物質を特定することができ、本発明を完成させるに至った。

【0014】

したがって、本発明の基本的態様となる請求項1に記載の発明は、炭素原子、水素原子、酸素原子および窒素原子を含む分子量550を有する物質であり、機器分析データとして、

図 8 に示す  $^1\text{H}$ -NMR スペクトル (溶媒:  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) を示し、  
 図 10 に示す  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (溶媒:  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) を示し、  
 図 6 に示す紫外線吸収スペクトルを示す物質 (活性物質  $\alpha$ ) である。

## 【0015】

また、本発明の別の基本的態様となる請求項 2 に記載の発明は、炭素原子、水素原子、酸素原子および窒素原子を含む分子量 550 を有する物質であり、機器分析データとして、

図 7 に示す質量分析スペクトルを示し、

図 9 に示す  $^1\text{H}$ -NMR スペクトル (溶媒:  $\text{D}_2\text{O}$ ) を示し、

図 11 に示す  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (溶媒:  $\text{D}_2\text{O}$ ) を示し、

図 6 に示す紫外線吸収スペクトルを示す物質 (活性物質  $\beta$ ) である。

## 【0016】

詳細には、本発明の上記で提供される活性物質  $\alpha$  および活性物質  $\beta$  は、ビールを出発材料とし、凍結乾燥により揮発性成分を除いて非揮発性成分を回収し、合成吸着剤クロマトグラフィーにより非吸着部を除いて吸着部を回収し、活性物質が濃縮された粗精製画分を得、さらに、弱酸性陽イオン交換クロマトグラフィーで非吸着部を除き、酸性メタノール (メタノール-塩酸) で活性物質を溶出し、次いで、0.01N-塩酸下においてゲル濾過クロマトグラフィーを行うことにより精製画分を得、さらに、ODS-HPLC ( $\text{C}_{18}$ -高速液体クロマトグラフィー) による高度精製を行い、2種の活性物質を単離することができる。かくして得られた活性物質は、共に水溶性であった。

## 【0017】

この2種の活性物質は、高速液体クロマトグラムにより単一ピークであることが確認され、また、ムスカリン  $\text{M}_3$  受容体の結合性試験において、当該受容体に対する親和性を有することが示された。特に、マウスを用いた消化管運動促進作用を、胃排出能促進活性を指標として評価した結果、当該活性物質は、強い消化管運動促進作用を有することが確認できた。

## 【0018】

ところでムスカリン  $\text{M}_3$  受容体は小腸だけでなく、胃を構成する各種細胞表面

に存在し、アセチルコリンが胃の生理機能の発現に重要な役割を果たしている。  
すなわち、壁細胞、主細胞およびG細胞はムスカリンM<sub>3</sub>受容体を介したアセチルコリンの刺激によって、それぞれ胃酸、ペプシノーゲンおよびガストリンの分泌を促進し、胃平滑筋は収縮することが知られている。

## 【0019】

さらに、膀胱の平滑筋（排尿筋）にもムスカリンM<sub>3</sub>受容体が存在しており、アセチルコリンの作用によって平滑筋が収縮し、排尿が促されることが明らかになっている。

## 【0020】

本発明により提供される活性物質 $\alpha$ および $\beta$ は、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体に対する作用を有していることから、したがって、消化管運動促進作用のみならず、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体の多様な生理作用に起因する排尿促進作用、胃酸分泌促進作用、および食欲増進作用を有するものであり、催吐性軽減や、味覚忌避軽食の効果も期待できる。

## 【0021】

さらに本発明者らは、ビールから単離した当該活性物質（ $\alpha$ 、 $\beta$ ）の由来を検討し、本活性物質を多く含む素材を各種スクリーニングした結果、酵母発酵産物、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物に、当該活性物質が含まれることがわかった。特に、発芽した大麦の分画物の一つである麦芽根には、当該物質が高濃度で含有されることを見出した。

【0022】 さらに、当該活性物質を含有する麦芽根の抽出物について、マグヌス法を用いてモルモットの回腸縦走筋の収縮に及ぼす影響を検討した結果、麦芽根抽出物は、回腸縦走筋を強く収縮させ、消化管運動促進作用を有することが確認できた。

## 【0023】

また本発明は、ビールから単離した活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ の作用に基づくドリンクアピリティー促進作用物質を提供することでもある。

## 【0024】

## 【発明の実施の形態】

以下に本発明が提供するムスカリンM<sub>3</sub>受容体に対する作用を有する活性物質の単離・精製、その特性等を詳細に説明することにより、本発明を詳細に説明していく。

## 【0025】

本発明が提供するムスカリンM<sub>3</sub>受容体に対する作用を有する活性物質は、具体的には、ビールから4ステップの液体クロマトグラフィーを適宜組み合わせ、単離・精製することができる。より具体的には、ビールを凍結乾燥することにより揮発性成分を除き、得られた非揮発性成分を、合成吸着剤、例えば、アンバーライトXAD-2、ダイアイオンHP-20を用いたクロマトグラフィーに供試験して非吸着部を除き、吸着部をアルコール、或いはメタノールにて溶出し、活性物質が濃縮された粗精製画分を得た。

## 【0026】

次いで、上記で得られたアルコール溶出部を、さらに、弱酸性陽イオン交換クロマトグラフィー、例えばCM-セファデックスC-25カラムクロマトグラフィーにて非吸着部を除き、吸着部から、酸性メタノール（メタノール-塩酸）で活性物質を溶出した。

## 【0027】

さらに、上記で得られた溶出分画を、0.01N-塩酸下におけるゲル濾過クロマトグラフィーを行うことにより精製画分を得、さらに、ODS-HPLC（C<sub>18</sub>-高速液体クロマトグラフィー）による高度精製を行い、目的とする2種の活性物質（活性物質α、活性物質β）を単離することができる。

## 【0028】

本発明にあっては、上記で単離・精製された活性物質をそのまま消化管運動促進成分として使用することもでき、また、そのような活性物質をそのまま用いる代わりに、ビール中より単離したムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する物質を含む天然物および天然物加工品を用いることができる。本発明において、天然物とは加工されていない穀物など（例えば、大麦）を指す。天然物加工品とは各種加工の施された天然物、例えば、酵母発酵産物、発芽した大麦、およびこれらの分画物などを指す。ここでいう分画物とは物理的に分けられた分画物（組織分画物）で

ある。また、天然物、酵母発酵産物および発芽した大麦等を微粉末化するなどして、直接飲食可能な組成物の形態に加工したのも天然物加工品に含まれる。

#### 【0029】

これらの天然物、および天然物加工品は、本発明が目的とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料および消化管運動促進剤の特性に応じて、種々天然物および天然物加工品から、適宜活性物質を抽出・分離・精製する所望の段階での組成物として、使用することができる。本発明では、活性物質を含むこれら組成物も天然物加工品を含む。

#### 【0030】

本発明において、そのような原料物質として使用される酵母発酵産物とは、例えば、サッカロマイセス属の酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた発酵により產生される産物を挙げることができる。より具体的には、ウィスキーなどの蒸溜酒を製造する際に得られる蒸溜残液のような酵母発酵産物の非揮発性画分、また、ビール、ワイン、清酒のような醸造酒等の酵母発酵産物を含む酵母発酵液などを挙げることができる。

#### 【0031】

なお、このような酵母発酵産物から、本発明が目的をするムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する、消化管運動促進作用を有する画分を取得する方法としては、例えば、次の方法により行うことができる。すなわち、上記した各種の酵母発酵産物から、合成吸着剤（例えば、三菱化学社製：ダイヤترونHP-20）等により吸着性成分を吸着し、次いで、吸着成分をメタノールあるいはエタノールなどのアルコールにより溶離させ、吸着画分から消化管運動促進画分を得る。

#### 【0032】

次いで、必要であれば、酸性pH条件下で陽イオン交換樹脂（例えば、ファルマシア社製：CMセファデックスC-25）に吸脱着して、酵母発酵産物の消化管運動促進画分成分として陽イオン成分を得、HPLC等で精製、またはエーテル等の有機溶媒中で結晶化して、高純度の活性物質を得ることができる。

#### 【0033】

また、別な手段として、大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物から単離

することもできる。本発明において大麦とは、学名ホルディウム ブルガーレ (Hordium Vulgare L.) のことをいい、特に限定されない。例えば、栽培上では、春播き (spring barley)、秋播き (winter barley) が挙げられ、また、種では、二条大麦と六条大麦が挙げられる。具体的な品種としては、日本においては、はるな二条、あまぎ二条、ミカモゴールドン、タカホゴールドンなどが挙げられ、海外においては、Alexis種、Schooner種、Harrington種、Orbit種、Corniche種、Triumph種が挙げられる。

## 【0034】

また本発明において、発芽した大麦とは、緑麦芽 (生麦芽) と乾燥麦芽のことをいい、特に限定されない。発芽の度合いは、生長中の大麦の温度、発芽中に供給される水分含量、発芽表層中の酸素と炭酸ガスの比率、発芽期間などの因子を管理することにより適宜決定できる。また、緑麦芽 (生麦芽) の水分は、約40から45%、乾燥麦芽の水分は、約3~15%のものが挙げられる。

## 【0035】

さらに、本発明において、発芽した大麦の分画物とは、穀皮部、でんぷん層 (胚乳)、果皮および種皮、葉芽、幼芽、アロイロン層画分、麦芽根、根芽などの組織画分及びそれらの混合物のことをいい、特に限定されるものではない。このような発芽した大麦の分画物は、常法によって調製でき、具体的には、破碎法、篩い法、搗精法、風選法、比重差選別法、脱芒法などを挙げることができる。

## 【0036】

そのなかにあっても、本発明においては特に、麦芽根 (幼根ともいう) は、大麦の発芽時に生長/発根する幼根/根であり、本発明が目的とする活性物質 $\alpha$ 、および活性物質 $\beta$ を含む天然物、および天然物加工品として好ましく使用することができる。

## 【0037】

このような大麦、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物から、本発明が目的とするムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進作用を有する組成物を取得する方法としては、常法による各種抽出・分離操作により、当該物質を含む組成物を得ることができる。より具体的には、分配平衡による分離、例えば、固液抽

出（水系抽出、有機溶媒系抽出など）、超臨界ガス抽出、吸着（活性炭など）；速度差に基づく分離、例えば、濾過、透析、膜分離（限外濾過、RO、機能性膜）、液体クロマトグラフィー（イオン交換など）；選択的沈殿の形成による分離、例えば、結晶化、有機溶媒による沈殿など；抽出・分離工程を適宜組み合わせを行うことができる。

## 【0038】

なお、必要であれば、濃縮、濾過、乾燥などを適宜行い、濃縮エキス、粉体、乾燥、結晶品などの各種形態として目的とする消化管運動促進組成物を得ることできる。かかる組成物の純度は、特に限定されず、目的とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料、消化管運動促進剤の特性に応じて適宜決定でき、粗精製物でもよく、あるいは高純度の精製物でもよい。

## 【0039】

また、麦芽根および／または根芽から、本発明が目的をするムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する、消化管運動促進作用を有する組成物を取得する方法としては、例えば以下のようにして行うことができる。すなわち、麦芽根および／または根芽が殻などの夾雑物を含む場合は、篩いなどの前処理方法によって夾雑物を取り除く。麦芽根および／または根芽そのものを、直接飲食可能な組成物の形態に加工する場合は、一般的に行われる粉碎法によって粉碎して微粉末化したり、ペースト化したり、ペレット化すればよい。また、麦芽根および／または根芽から、抽出・分離した組成物を得る場合は、水や溶媒によって抽出することにより目的とする消化管運動促進組成物を得る。

## 【0040】

次いで、必要であれば、当該抽出液を、合成吸着剤、活性炭、イオン交換樹脂などの各種吸着剤、分離膜などの分離精製法を用いて適宜処理し、さらに純度良く消化管運動促進組成物を得ることができる。また、濃縮、濾過、乾燥などを行い、濃縮エキス、粉体、乾燥、結晶品などの各種形態の、消化管運動促進組成物とすることもできる。あるいは、糖類と混和して、シロップ状の消化管運動促進組成物を得てもよい。また、塩としての形態で得ることもでき、そのような塩としては、塩酸塩など、特に限定されるものではない。

## 【0041】

なお、本発明にあっては、麦芽根および／または根芽を、直接、他の原料と混和し、水や溶媒によって抽出・分離し、本発明が目的とする消化管運動促進成分を含む飲料として製造することもできる。この場合の麦芽根および／または根芽の使用量は、麦芽根および／または根芽の原料配合量として、最終製品当たり20mg～200g/L、当該活性物質の含量として、最終製品当たり0.01mg～100mg/L程度であることが好ましい。

## 【0042】

以上のようにして得られた本発明が目的とするムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進成分は、そのまま単独で消化管運動促進性の添加物として飲食物に添加混合してもよく、または必要であれば飲食用に適する担体と共に、乾燥品、液状品、粉末品等の飲食物添加剤として供してもよい。さらには、アルコール飲料やミネラルウォーターに予め、または用時添加するための易溶性製剤として使用することもできる。

## 【0043】

また、本発明が目的とするムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進成分を含有する天然物、あるいは天然加工品は、消化管運動促進性の添加物として飲食物に添加混合してもよく、または必要であれば飲食用に適する担体と共に、乾燥品、液状品、粉末品等の飲食物添加剤として供してもよい。さらには、アルコール飲料やミネラルウォーターに予めまたは用時添加するための易溶性製剤としてもよい。

## 【0044】

本発明が提供する飲食物添加剤の態様には、種々の用途の飲食物用製品、例えば、調味料、調味液、香料、ふりかけ、食用油、出し汁、栄養強化剤の一成分として消化管運動促進成分を含有する消化管運動促進性の飲食物添加剤も包含される。

## 【0045】

本発明において有効成分である、消化管運動促進成分、組成物もしくはそれらの混合物は、食品原料とともに、一般の製造法により飲食物、健康食品、特別用



途食品として加工製造することができる。

【0046】

飲食物の種類、形態は特に限定されず、例えば固形、あるいは液状の食品ないしは嗜好品、例えばパン、麺類、ごはん、菓子類（ビスケット、ケーキ、キャンデー、チョコレート、和菓子、グミ、チュウインガム）、豆腐およびその加工品などの農産食品、みりん、食酢、醤油、味噌、ドレッシングなどの調味料、ヨーグルト、ハム、ベーコン、ソーセージ、マヨネーズなどの畜農食品、かまぼこやハンペン等の水産練り製品、果汁飲料、清涼飲料、スポーツ飲料、コーヒー飲料、茶飲料、炭酸飲料などの飲料、さらにはベビーミルク、コーヒー用ミルク等の粉乳や乳製品等の形態にすることができる。

【0047】

健康食品の種類、形態も特に限定されず、例えば、錠剤、カプセル品、固形、あるいは液状などが挙げられる。

【0048】

特別用途食品としては、病弱者用食品、妊産婦／授乳婦用粉乳、乳児用調整粉乳、高齢者用食品、保健機能食品（栄養機能食品、特定保健用食品）を挙げることができる。

【0049】

また、本発明における有効成分は、ビール、発泡酒等の麦芽発酵飲料、ワイン、清酒、薬用酒などの醸造酒に添加して消化管運動促進作用／ドリンカビリティー促進作用が増強されたアルコール飲料として、また、ウィスキー、ブランデー、焼酎などの蒸溜酒に添加して消化管運動促進作用／ドリンカビリティー促進作用が付与された食前・食中酒として摂取できる形態にあるアルコール飲料として加工製造されてもよい。

【0050】

本発明はさらに、本発明が提供する活性物質を含有する消化管運動促進剤を提供するものでもある。このような促進剤は、慣用の製剤技術を用いて、たとえば、カプセル剤、錠剤、粉末剤、顆粒剤、ドリンク剤、シロップ剤、注射剤、点滴剤等の形態に製剤化することができる。これらは、主として食前、食中に消化管運

動促進を高める目的で用いることができ、あるいは嗜好品などとして適宜摂取することも可能である。さらに、健常者の消化管運動促進を高める目的以外にも、術後、加齢、疲労、疾病、傷害等における消化管運動能力の低下を回復させる目的で、或いは、抗ガン剤の投与による食欲不振などを改善する目的で用いることもできる。

## 【0051】

本発明が目的とする消化管運動促進活性成分は、ムスカリン $M_3$ 受容体に作用する物質である。このムスカリン $M_3$ 受容体は多様な生理作用に参与していることから、本物質が、消化管運動促進作用のみならず、排尿促進作用、胃酸分泌促進作用、および食欲増進作用を有することは明らかである。

## 【0052】

また、本発明が目的とする消化管運動促進成分には、ドリンカビリティー促進作用があることが判明した。

## 【0053】

これらの種々の作用／効能を活用し、消化管運動促進、排尿促進、胃酸分泌促進、食欲増進および/またはドリンカビリティー促進成分として、ビールから単離された2種の物質をそのまま用いる代わりに、ビール中より単離したムスカリン $M_3$ 受容体に作用する物質を含む天然物（例えば、大麦など）、および天然物加工品（例えば、酵母発酵産物、発芽した大麦、発芽した大麦の分画物など）を用いることができる。またそれら天然物および天然物加工品を抽出・分離した組成物の状態で、目的とする飲食物、飲食物添加剤、医薬品、動物用飼料および消化管運動促進剤の特性に応じて好ましい態様として用いることができる。

## 【0054】

本発明が提供するムスカリン $M_3$ 受容体に作用する消化管運動促進成分は、最終的に飲食物に添加されヒトまたは他の動物が摂取する場合、摂取された有効成分が消化管運動を促進する量で提供されればよく、例えば、活性物質に換算して、食事ごとに数mg程度摂取できる形態で提供されればよい。したがって、飲食物、飲食物添加剤、消化管運動促進成分または動物用飼料の各使用形態により異なるが、それぞれ、好ましくは1日あたり0.01mg～100mg、特に好ま

しくは1日あたり0.05mg～50mg、さらに好ましくは、0.1mg～10mg程度摂取されるよう提供されればよい。

#### 【0055】

なお、本発明が提供する消化管運動促進活性物質は、マウスを用いた急性毒性試験において、50mg/kgの経口投与でも死亡例はなく、一般症状および体重等に異常は認められず、非常に弱毒または無害の物質であることが判明した。

#### 【0056】

以上のとおり、本発明によれば、消化管運動の低下によって生じる食欲不振、消化不良、食後の腹部膨満感、胃のもたれ、悪心、嘔吐、上腹部痛などの消化器症状に悩む対象に対し、消化管運動促進効果およびドリンカビリティー促進効果によって、食欲およびドリンカビリティーを増進することができる。

#### 【0057】

#### 【実施例】

以下に、本発明を実験例および実施例により、さらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例等により限定されるものではない。

#### 【0058】

ビール乾燥物は、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体を刺激することによって消化管運動を促進することが明らかとなっている。したがって、ムスカリンM<sub>3</sub>受容体への結合活性を指標として、ビール中の消化管運動促進物質の探索を行った。

#### 【0059】

#### 参考例1：ムスカリンM<sub>3</sub>受容体結合性試験

ムスカリンM<sub>3</sub>受容体結合性試験法は、次の通りである。

ヒトのムスカリンM<sub>3</sub>受容体を発現させた組換えチャイニーズハムスター卵巣細胞株の膜標品の懸濁液に、検体（ビール乾燥物およびその分画物）と、リガンド：0.2nMの[<sup>3</sup>H]4-DAMP（ジフェニルアセトキシ-N-メチルピペリジンメチオダイド）を添加し、22℃で60分間インキュベートした。反応液をガラス繊維フィルター（GF/B：Packard社製）にて吸引濾過して反応を停止させ、氷冷した緩衝液で数回洗浄した。フィルターにシンチレーションカクテル（Microscint 0：Packard社製）を加え、フィルター上に残

存する放射活性を液体シンチレーションカウンター（Topcount：Packard社製）で計測した。 $[^3\text{H}]$  4-DAMPの特異的結合量は、 $[^3\text{H}]$  4-DAMPの全結合量から $1\ \mu\text{M}$ アトロピン存在下の非特異的結合量を差し引くことにより算出した。

## 【0060】

ビール乾燥物の $[^3\text{H}]$  4-DAMP結合に対する阻害曲線を図1に示した。図中に示した結果からも判明するように、ビール乾燥物は、 $0.1\ \text{mg/mL}$ から $[^3\text{H}]$  4-DAMP結合を抑制し、その結合の50%を阻害する濃度である $\text{IC}_{50}$ 値は、約 $2\ \text{mg/mL}$ であった。

## 【0061】

実施例1：

参考例1に示すムスカリン $\text{M}_3$ 受容体結合性試験による結合活性を指標として、リガンドの受容体結合を阻害する画分を分離・精製し、ビール中の消化管運動促進物質の精製を試みた。図2に、分離・精製フローを示した。

## 【0062】

すなわち、10Lのビール（麦芽100%、アルコール濃度5%、乾燥重量3.5% w/v）を凍結乾燥し、得られた乾燥物に純水を加え、合成吸着剤（吸着剤：XAD-2）クロマトグラフィーに供した。結合活性の得られた、メタノール溶出物から、メタノールを蒸発させ、得られた乾燥物に純水を加え、弱酸性・陽イオン交換クロマトグラフィー（樹脂：CMセファデックスC-25）に供した。次に、結合活性の得られたメタノール-塩酸溶出物から、メタノールおよび塩酸を蒸発させ、得られた乾燥物に純水を加え、ゲル濾過クロマトグラフィー（樹脂：セファデックスG-15）に供した。さらに、結合活性の得られた活性画分（活性フラクションNo. 1： $K_d=3-5$ ；活性フラクションNo. 2： $K_d=7-9$ ）を、それぞれ分取用ODS-HPLCに付した。その結果、活性フラクションNo. 1からは、 $4.2\ \text{mg}$ の活性物質 $\alpha$ が、また、活性フラクションNo. 2からは、 $12.6\ \text{mg}$ の活性物質 $\beta$ が得られた。

## 【0063】

上記で得られた2種の活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）を、HPLC

により分析した。活性物質 $\alpha$ の、HPLC分析チャートを、図3として示す。

図から明らかな様に、活性物質 $\alpha$ は、HPLC上の単一ピークに精製できており、また、リテンションタイムは、約33-34分にあることが判明した。

なお、活性物質 $\beta$ も、同様の分析条件で、HPLC上の単一ピークに精製できたことを確認し、また、リテンションタイムは、活性物質 $\alpha$ と同一であった。

また、活性物質 $\alpha$ および $\beta$ は、異なる条件下でのHPLC分析でも単一ピークを示すことを確認された。

#### 【0064】

かくして得られたHPLC上単一ピークに精製された活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ について、それぞれの用量をふって、参考例1に記載したムスカリン $M_3$ 受容体結合性試験を行い、用量-作用曲線を求めた。

その結果を図4（活性物質 $\alpha$ ）および図5（活性物質 $\beta$ ）に示した。図中に示した結果から明らかなように、活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ には、用量依存性が確認され、その $IC_{50}$ はそれぞれ、活性物質 $\alpha$ では $0.65 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$ 、活性物質 $\beta$ では $2.30 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$ であった。

なお、4-DAMPの $IC_{50}$ は、 $0.62 \times 10^{-9} \text{ g/mL}$ であった。

#### 【0065】

以上に記載したように、ビール中から、2種の活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）を単離することができ、両者共にHPLC上の単一ピークであることを確認し、また、ムスカリン $M_3$ 受容体への結合作用が、用量依存性であることが確認された。

#### 【0066】

##### 実施例2：

上記で単離・精製した2種の活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）について、その紫外吸収スペクトル、質量分析スペクトル、および核磁気共鳴スペクトルデータによる解析を行った。

#### 【0067】

##### 1. 紫外線吸収スペクトル

まず、活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ の紫外吸収スペクトル（UVスペクトル）

を測定した結果を図6に示した。

両物質のUVスペクトルは非常に類似しており、230nm付近を中心とする一個の吸収ピーク、300nm前後にややブロードな吸収ピークが認められ、両物質に特有の紫外吸収スペクトルパターンを示した。

【0068】

## 2. 質量分析 (FAB-MASS) スペクトル

次に、活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ について、その質量分析 (FAB-MASS) を行った。

活性物質 $\beta$ を3-ニトロベンジルアルコールに溶解して、質量分析を行った結果を図7として示した。その結果、分子イオンとして、質量/電荷 ( $m/z$ ) が、551 ( $M+H$ )<sup>+</sup>となり、分子量は550を有するものであることが判明した。

また、活性物質 $\alpha$ についても同様に質量分析を行い、その分子量は活性物質 $\beta$ と同様に550を有するものであることが判明した。

【0069】

## 3. 核磁気共鳴 ( $^1H$ -NMR、 $^{13}C$ -NMR) スペクトル

さらに、活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ について、その核磁気共鳴 ( $^1H$ -NMR、 $^{13}C$ -NMR) スペクトル解析を行った。

なお、活性物質 $\alpha$ については $CD_3OD$ を溶媒として、また、活性物質 $\beta$ については $D_2O$ を溶媒として測定を行った。

活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ の $^1H$ -NMRスペクトル解析データをそれぞれ図8 (活性物質 $\alpha$ ) および図9 (活性物質 $\beta$ ) に、また、 $^{13}C$ -NMRスペクトル解析データをそれぞれ図10 (活性物質 $\alpha$ ) および図11 (活性物質 $\beta$ ) に示した。

活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ の $^1H$ -NMRおよび $^{13}C$ -NMRスペクトルを比較した結果、共にシグナルの数が近く、ケミカルシフトやシグナルの分裂パターンが酷似しており、両者はよく似た構造の化合物であることが理解される。

【0070】

以上のように、単離した活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ を、紫外吸収、質量分析

、および核磁気共鳴スペクトルデータによる解析で特定することができた。

【0071】

### 実施例 3：

次に、単離・特定ができた活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ の両者について、マウスにおける消化管運動促進作用を、胃排出能促進活性を指標として評価した。

#### 1. 方法

18時間絶食下の ddY 系マウス (1 群 10 匹) に、蒸留水、活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ を、胃ソングを用いて経口投与し、60分後に試験食 (フェノールレッドを 0.05% 含む 1.5% メチルセルロース溶液) を 0.2 mL/匹の割合で同様に経口投与した。試験食投与の 15 分後に、マウスを頸椎脱臼によって屠殺し、胃を摘出した。胃を内容物とともに 10 mL の 0.1 N-NaOH でホモゲナイズし、室温で 1 時間放置した後、上清 1 mL に 0.1 mL の 20% トリクロロ酢酸を加えて除蛋白を行った。遠心分離後、上清 0.5 mL に 0.5 mL の 0.5 N-NaOH を加えて発色させ、560 nm での吸光度より胃内に残存するフェノールレッド量を求めた。胃排出率は以下の式に従って算出した。

【0072】

【数 1】

$$\text{胃排出率 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

A : 試験食投与直後の胃内フェノールレッド量

B : 試験食投与 15 分後の胃内フェノールレッド量

【0073】

#### 2. 結果

測定結果は、平均値と標準誤差で表し、群間の有意差検定には Student の t-検定を用いた。その結果を図 12 に示した。

図中の結果から明らかなように、活性物質 $\alpha$  (0.1 および 0.3 mg/kg) および活性物質 $\beta$  (0.3 および 1.0 mg/kg) は、用量依存的かつ有意に ( $P < 0.05$ ) 胃排出を促進していた。したがって、両物質には強い消化管運動促進作用を有することが確認できた。

なお、ムスカリン  $M_3$  受容体は多様な生理作用に関与していることから、両物質

は、消化管運動促進作用のみならず、排尿促進作用、胃酸分泌促進作用、および食欲増進作用を有することが判明した。

【0074】

実施例 4 :

次に、ビールから単離した活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）について、ビール以外の素材から、天然型の活性物質を含む組成物として得るために、実施例 1 の精製法および HPLC 分析法を用い、本活性物質を多く含む天然の素材を検討した。

【0075】

各種素材のメタノール抽出物を凍結乾燥した後に純水に溶解し、実施例 1 に準じて、弱酸性・陽イオン交換クロマトグラフィーおよびゲル濾過クロマトグラフィーを行い、得られたフラクション（ $K_d = 3-5$  および  $K_d = 7-9$ ）を、実施例 1 と同様の条件で HPLC 分析を行い、リテンションタイムとピーク面積から、活性物質含有の有無およびその含有濃度を算出した。

【0076】

その結果、発芽した大麦の分画物の一つである麦芽根に、活性物質が含有されていることが確認された。

図 13 に、麦芽根抽出物から得られたフラクションのうち、 $K_d = 7-9$  の画分の HPLC 分析チャートを示した。

図中の矢印で示す活性物質のピークがリテンションタイム 33-34 分に、他のピークと重ならないピークとして確認されていた。

また、この  $K_d = 7-9$  の画分に、実施例 1 で単離された活性物質 $\beta$ を加えて、HPLC 分析を行った結果、ピークが一致することが判明した。

したがって、麦芽根には活性物質 $\beta$ が含まれることが明らかとなった。また、同様に  $K_d = 3-5$  の画分を分析し、麦芽根に、活性物質 $\alpha$ が含まれることがわかった。さらに、ピーク面積から、活性物の含有濃度を算出したところ、活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ が、高濃度（それぞれ、麦芽根 1 g 当たり、約 0.15 mg および約 0.5 mg）含有されていることが判明した。

【0077】



麦芽根は、発芽した大麦の分画物の一つであることから、麦芽根以外の、発芽した大麦の分画物、例えば、穀皮部、でんぷん層（胚乳）、果皮および種皮、葉芽、幼芽、アロイロン層面分、根芽などにも本発明が目的とする活性物質が含まれることは明らかであり、また、大麦、発芽した大麦、にも同様に含まれることも明らかである。

#### 【0078】

以上の検討から、麦芽根およびその関連素材（発芽した大麦の分画物、大麦、発芽した大麦）からの抽出・分離により、天然型の活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）を含む各種組成物／添加剤を得ることができると判明した。

#### 【0079】

#### 実施例 5：

さらに、当該活性物質を含有する麦芽根抽出物の消化管運動促進作用を明らかにするために、マグヌス法を用いてモルモットの回腸縦走筋の収縮に及ぼす影響について検討した。

すなわち、Hartley系雄性モルモットより摘出した回腸縦走筋をトランスデュースーからつり下げてKrebs-Ringer溶液に浸し、溶液を35℃に保温して、95%  $O_2$  / 5%  $CO_2$  ガスにて飽和・安定化させた。縦走筋の運動をレコーダー上に描記させ、自発性運動が一定になったところで、比較品である麦芽根抽出・乾燥物（ $IC_{50} = 0.20 \times 10^{-3}$  g/ml、 $IC_{50}$ ；陽性対象物質のM3受容体結合に対する50%競合阻害濃度（参考例1.に準ずる））、対照品であるビール乾燥物（ $IC_{50} = 2.00 \times 10^{-3}$  g/ml、参考例1.に同じ）、及び、陽性対照であるカルバコールを添加し、縦走筋の収縮反応を測定した。

結果を図14に示す。その結果、図から明らかな通り、麦芽根抽出・乾燥物は、0.005～0.5mg/mlで用量依存的にモルモットの回腸縦走筋を収縮させた。また、カルバコール（ $5 \times 10^{-8}$  M）による筋収縮度を100として、対照品であるビール乾燥物と比較したところ、麦芽根抽出・乾燥物の作用の強さはビール乾燥物の約20倍に相当した。

従って、当該活性物質を含有する麦芽根抽出物は、強い消化管運動促進作用を有することが確認できた。

## 【0080】

実施例6：ヒトにおける官能試験

本発明が目的とする活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）を含む天然物または天然物加工品から抽出・分離操作により得た消化管運動促進性の組成物を含む飲食物の一例として、飲料（アルコール飲料）を調製し、ヒトにおける消化管運動促進作用および排尿促進作用を評価した。

## 【0081】

## 1. アルコール飲料の調製

実施例4において、麦芽根に天然型の活性物質（活性物質 $\alpha$ および活性物質 $\beta$ ）が含有されていることが明らかであることから、麦芽根の水溶性画分として、麦芽根を水抽出した組成物を添加して、アルコール飲料を調製した。なお、麦芽根を水抽出した組成物は、麦芽根約150gの粉碎物を用いて、純水にて抽出した後、濾過を行い、乾燥物重量で約30g〔収率：約20%（w/w）〕得られた組成物（活性物質 $\alpha$ の含量で約22.5mg、活性物質 $\beta$ の含量で約75mgに相当する量が含まれる）を用いた。

850mLの59%アルコール、100mLの5倍濃縮タイプの透明・梅果汁、200gの砂糖、20gのクエン酸、6mLの香料、30gの上記組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を加え、純水にて最終10Lに調整した調合液を、加熱殺菌、冷却し、炭酸ガスを圧入した後、250mL入りの缶に充填、密栓し、アルコール分5%の梅風味のアルコール飲料である試作品1（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質 $\alpha$ および $\beta$ を、それぞれ、約2.25mg/Lおよび約7.5mg/L含む）を得た。なお、対照品1として、上記組成物を加えていない、アルコール飲料を、同様の方法で調製した。

## 【0082】

## 2. 官能試験

ヒトにおける消化管運動促進作用および排尿促進作用の評価は、以下の様に行った。すなわち、健常人男性20名を10名ずつに分け、試作品1、対照品1の摂取グループに分け、二週間の間隔をあけて、クロスさせて二重盲検法にてテストした。

試作品1および対照品1は、15分当たり2.4mL/kgで2時間摂取させ、また、ポテトチップスを15分当たり0.2g/kgで2時間摂取させた。

消化管運動促進性の評価は、腹部膨満感を指標とし、60分および120分後の評点を、被験者が記載する方法で行った。

【0083】

### 3. 評価基準

1) 腹部膨満感の評価は、膨満感を感じる順に、

感じる：3点、

やや感じる：2点、

あまり感じない：1点

の点数による3段階評価とした。

【0084】

2) 排尿促進作用の評価は、試験前に排尿を済ませておき、その後30分毎にトイレに行き、排出される尿量を測定した。

【0085】

### 4. 結果

表1に、腹部膨満感に関する評価結果を示す。

【0086】

【表1】

	腹部膨満感に関する3段階評価の回答者数			
	試作品1		対照品1	
	60分	120分	60分	120分
被験者20名の回答				
「感じる」(3点)との回答者	0人	3人	2人	15人
「やや感じる」(2点)との回答者	3人	16人	16人	5人
「あまり感じない」(1点)との回答者	17人	1人	2人	0人
平均点	1.2点	2.1点	2.0点	2.8点

【0087】

上記の結果からも明らかなように、試作品1は、60分後において、膨満感をあまり感じないという評価が多く、また、120分後においても、膨満感を

るという評価は少なく、膨満感をやや感じるという評価が多かった。

一方、対照品 1 は、60 分後において、膨満感をやや感じるという評価が多く、また、120 分後においては、膨満感を感じるという評価が多かった。

以上の結果から判断すると、本発明の活性物質を含む組成物を添加した飲料である試作品 1 には、腹部膨満感を感じる度合いを抑える効果があり、消化管運動促進性の作用があることが示された。

#### 【0088】

また、図 15 に、30、60、90、120 分までに排出された尿量の測定結果（平均値）を示した。

その結果、試作品 1 は、対照品 1 に比較して各時間において排出される尿量が相対的に多くなっていることが明らかになった。

したがって、ムスカリン M<sub>3</sub> 受容体は多様な生理作用に参与していることから推定した通り、本物質には消化管運動促進作用のみならず、排尿促進作用を有することが明らかとなった。

#### 【0089】

#### 実施例 7：

本発明の活性物質（活性物質 α および活性物質 β）には、消化管運動促進作用および排尿促進作用が確認できたことから、本活性物質のドリンカビリティー促進作用を、ラットを用いて検討した。

##### 1. 方法：

すなわち、まず、実施例 6 と同様の組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を、実施例 6 と同じ最終濃度（麦芽根の水抽出物：3 g/L）になるように 3 % の砂糖水に添加し、ノンアルコール飲料である試作 2（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質 α および β を、それぞれ、約 2.25 mg/L および約 7.5 mg/L 含む）を調製した。また、活性物質を添加しない 3 % の砂糖水である、ノンアルコール飲料、対照品 2 を調製した。

次いで、ラット（1 群 3 匹）に、試作品 2 および対照品 2 を、それぞれ自由摂取させ、摂水量を 5 日間わたって測定した。

#### 【0090】

## 2. 結果

図16に、試作品2および対照品2についての、各期間（1-2日目、2-3日目、3-4日目、4-5日目）における、ラット一匹あたりの摂水量の平均値を示した。

図中に示した結果からも判明するように、試作品2は、対照品2に比較して、評価した各期間の全てにおいて、摂水量が相対的に多くなっていることが理解される。

### 【0091】

以上の結果から判断すると、本発明が提供する活性物質には、消化管運動促進作用に加え、ドリンカビリティー促進作用があることが理解される。ドリンカビリティー促進作用は、飲料を多く飲んでも飲み飽きないというだけでなく、おいしさにも影響を及ぼすことから、飲料として重要な特性である。本発明における活性物質を添加した飲料は、その様な特性を付与されたものであることが判明した。

### 【0092】

#### 実施例8：ヒトにおける飲食物摂取動態比較

当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を添加した醸造酒の一種であるビールを試作し、飲食物摂取動態を比較した。

ビールは、麦芽、ホップ、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）、水を原料として、常法に従い、100Lの仕込み、発酵、濾過、充填を行って製造した。すなわち、粉碎した麦芽15kgを仕込み釜で糖化し、副原料として、上記組成物（0.4kg；麦芽根2kg相当）を添加した後、濾過槽で濾過を行った。次に、ホップを添加して煮沸釜で煮沸した後、生じた蛋白質などの澱をワールプールと呼ばれる沈殿槽で除去した。清澄化した溶液に、酵母を加えて、発酵させた後、-1℃に冷却して貯酒を行った。さらに、発酵液を濾過して酵母を除去し、アルコール4%程度の醸造酒（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質αおよびβを、それぞれ、約3.0mg/Lおよび約10.0mg/L含む）を製造した（試作品3）。また、コントロールとして、麦芽根を添加しないビールも同様に製造した（対照品3）。

飲食物摂取動態比較は、クロスオーバー・トライアル法に加え、二重盲検法も採用して実施した。すなわち、20名の被験者を2群に分け、上記の麦芽根添加および無添加ビール；自由摂取、食物；自由摂取、飲食時間；2時間、の条件にて比較検討し、飲用量の変化、及び、2時間後に残った食事量を評価した。さらに詳しくは、食物として、0分に、オードブル盛合せ、豆腐、魚の刺身を提供、30分に、肉のステーキ、60分に、焼きナス、揚げ豆腐を提供、90分に、ライス、スープ、フルーツを提供した。また、飲用量は、30分毎に120分まで測定した。

飲用量の平均値を図17に示す。その結果、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を添加した醸造酒の一種であるビール（試作品3）は、当該活性物質を含む組成物・無添加のビール（対照品3）に比べ、飲用量が多くなる、すなわち、ドリンカビリティーが増大する傾向が見られた。

2時間後に残った食事の評価結果を表2に示す。その結果、試作品3を飲用した場合、対照品3を飲用した場合に比べ、食事を残す量が明らかに少なく、食欲増進作用が認められた。

【0093】

【表2】

	食事の被験者20名の平均残量	
	試作品3・飲用時	対照品3・飲用時
ライス	21 g	145 g
スープ	5 ml	120 ml
フルーツ	3 g	35 g

【0094】

これらのことから、当該活性物質を含む組成物を増した飲料は、ヒトにおいて、ドリンカビリティー促進、及び、食欲増進の効果があることが確認できた。

【0095】

以下に本発明の活性物質を含有する飲料、医薬品原体についての実施例を記載する。

実施例 9：清涼飲料の製造

果汁、クエン酸、砂糖、香料、当該活性物質を含む組成物（麦芽根を水抽出した組成物）を原料として、常法に従い、調合し最終 1,000 mL に調整した後、殺菌、充填を行って、清涼飲料の一種として、果汁系ニアウォーターを製造した。すなわち、グラニュー糖を 40 g 測りとり、50℃の純水で溶解させ、ストレート果汁換算で 1% となる様に各種の濃縮混濁果汁〔オレンジ果汁（濃縮倍率 5 倍）、リンゴ果汁（濃縮倍率 4 倍）〕を加え、さらに、0.15 g のクエン酸、3 g の上記組成物、2 mL の香料、0.25 g の L-アスコルビン酸を加えて、純水にて総量を最終 1,000 mL に調整した後、100℃、20 分間の加熱殺菌処理を行い、各 100 mL を透明瓶（110 mL 容量）に充填、密栓し、各種果汁入りの果汁系ニアウォーター（果汁：1%）（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質  $\alpha$  および  $\beta$  を、それぞれ、約 2.25 mg/L および約 7.5 mg/L 含む）製造した。

【0096】

実施例 10：健康食品

麦芽根約 1.5 kg を用いて、純水にて抽出を行った後、陽イオン交換クロマトグラフィーおよび ODS-HPLC にて精製し、約 3 g [収率：約 0.2% (w/w)] の粗精製物（活性物質  $\alpha$  の含量で約 250 mg、活性物質  $\beta$  の含量で約 750 mg 含まれる）を得た。

次に、上記粗精製物：50 mg、乳糖：120 mg、結晶セルロース：；30 mg を配合して、一粒 200 mg の内容物からなるカプセル剤の健康食品（当該活性物質の含量として最終製品当たり、活性物質  $\alpha$  および  $\beta$  を、それぞれ、約 4.17 mg/カプセルおよび約 12.5 mg/カプセルを含む）を製造した。

【0097】

実施例 11：医薬品原体

麦芽根約 150 kg を用いて、純水にて抽出を行った後、陽イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィーおよび ODS-HPLC にて精製して、乾固させた後、蒸留水に溶解し、殺菌、濾過、精密濾過を行って、医薬品原体として、約 45 g の純度約 99%（HPLC 分析法による）の活性物質  $\beta$  の精

製物を得た。

【0098】

【発明の効果】

以上記載のように、本発明により、ビールから単離したムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進物質および／またはドリンカビリティー促進物質、ならびに、当該物質を含む天然物および天然物加工品より得た当該物質を含む組成物および精製物を飲食物用の添加剤として活用し、そのような添加剤を含む消化管運動促進性の飲食物を提供することができる。

【0099】

特に本発明のムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進物質は、消化管運動の低下によって生じる食欲不振、消化不良、食後の腹部膨満感、胃のもたれ、悪心、嘔吐、上腹部痛などの消化器症状に悩む対象に対し、有効に消化管運動を促進するものであり、また、ドリンカビリティー促進効果によって、食欲およびドリンカビリティーを増進することができる利点を有する。

【0100】

さらに、これらの消化管運動促進物質および／またはドリンカビリティー促進物質を含む組成物を用いて、各種飲料、機能性食品を提供することができ、その有用性は多大なものである。

【0101】

【図面の簡単な説明】

【図1】

参考例1による、ビール乾燥物の分画物の [<sup>3</sup>H] 4-DAMP結合に対する阻害曲線を示すグラフである。

【図2】

実施例1の、ビール中の消化管運動促進物質の分離・精製のフローを示す図である。

【図3】

実施例1で得られた本発明の活性物質αのHPLCクロマトグラム図である。

【図4】



実施例 1 における  $[^3\text{H}]$  4-DAMP 結合に対する阻害曲線を示すグラフであり、本発明の活性物質  $\alpha$  の阻害曲線を示す。

【図 5】

実施例 1 における  $[^3\text{H}]$  4-DAMP 結合に対する阻害曲線を示すグラフであり、本発明の活性物質  $\beta$  の阻害曲線を示す。

【図 6】

実施例 2 の活性物質  $\alpha$  および活性物質  $\beta$  の紫外吸収スペクトルデータを示すグラフである。

【図 7】

実施例 2 の活性物質  $\beta$  の質量分析スペクトルデータを示すグラフである。

【図 8】

実施例 2 における活性物質  $\alpha$  の核磁気共鳴 ( $^1\text{H}$ -NMR) スペクトル解析図である。

【図 9】

実施例 2 における活性物質  $\beta$  の核磁気共鳴 ( $^1\text{H}$ -NMR) スペクトル解析図である。

【図 10】

実施例 2 における活性物質  $\alpha$  の核磁気共鳴 ( $^{13}\text{C}$ -NMR) スペクトル解析図である。

【図 11】

実施例 2 における活性物質  $\beta$  の核磁気共鳴 ( $^{13}\text{C}$ -NMR) スペクトル解析図である。

【図 12】

実施例 3 におけるマウスにおける活性物質  $\alpha$  および活性物質  $\beta$  の胃排出能促進効果の結果を示すグラフである。

【図 13】

実施例 4 の麦芽根から抽出・部分精製した組成物の HPLC クロマトグラムを示す図である。

【図 14】

実施例 5 のモルモットにおける当該活性物質を含有する麦芽根抽出物のモルモット回腸縦走筋の収縮作用を示すグラフである。

【図 1 5】

実施例 6 のヒトにおける消化管運動促進性物質配合飲食物（アルコール飲料）の排尿促進作用の結果を示すグラフである。

【図 1 6】

実施例 7 のラットにおける消化管運動促進性物質配合飲食物（ノンアルコール飲料）のドリンカビリティー促進作用の結果を示すグラフである。

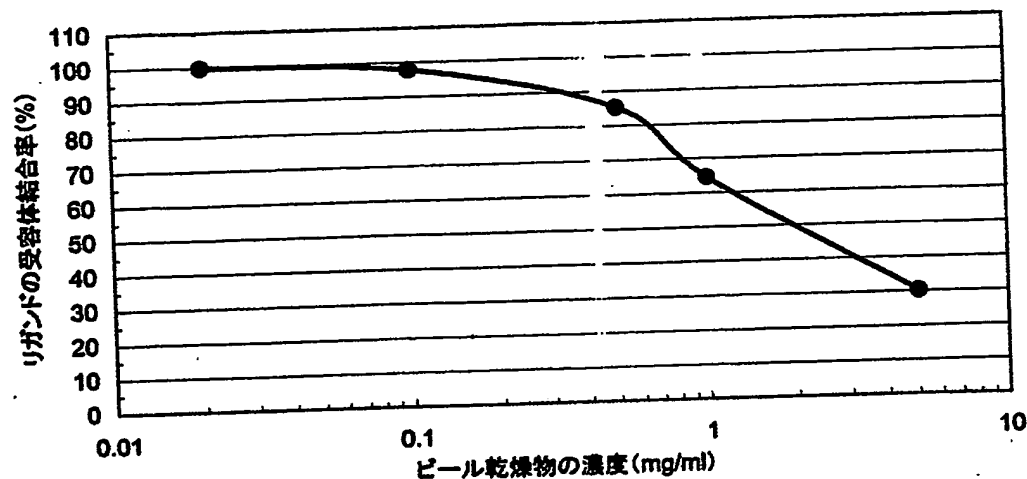
【図 1 7】

実施例 8 のヒトにおける消化管運動促進性物質配合飲食物（ビール）のドリンカビリティー促進作用の結果を示すグラフである。

【書類名】

図面

【図 1】



【図 2】

( )内の数値は量/収量を示す。

ビール(10L)

↓凍結乾燥

凍結乾燥ビール(350g)

↓合成吸着剤クロマトグラフィー[吸着剤: XAD-2]

吸着部[メタノール溶出物](10.9g)

↓弱酸性・陽イオン交換クロマトグラフィー[樹脂: CM Sephadex C-25]

吸着部[メタノール-塩酸溶出画分](2.19g)

↓ゲルろ過クロマトグラフィー[樹脂: Sephadex G-15]

・活性フラクション No.1:  $K_d = 3-5$  (55.5mg)

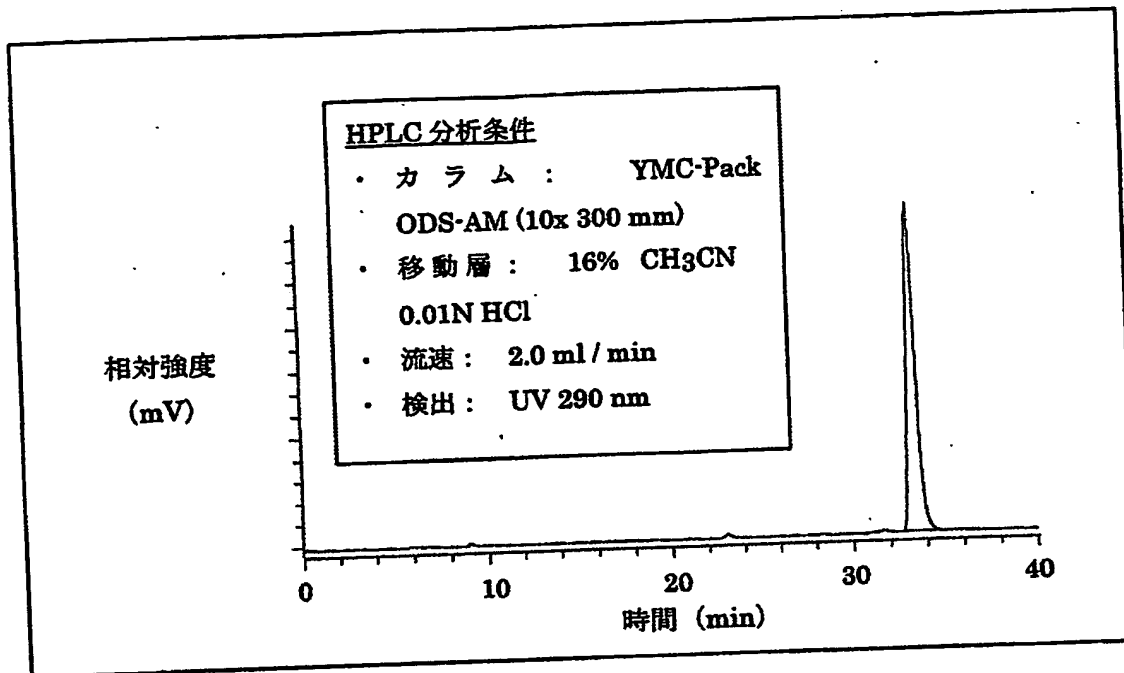
・活性フラクション No.2:  $K_d = 7-9$  (33.1mg)

↓分取用 ODS-HPLC

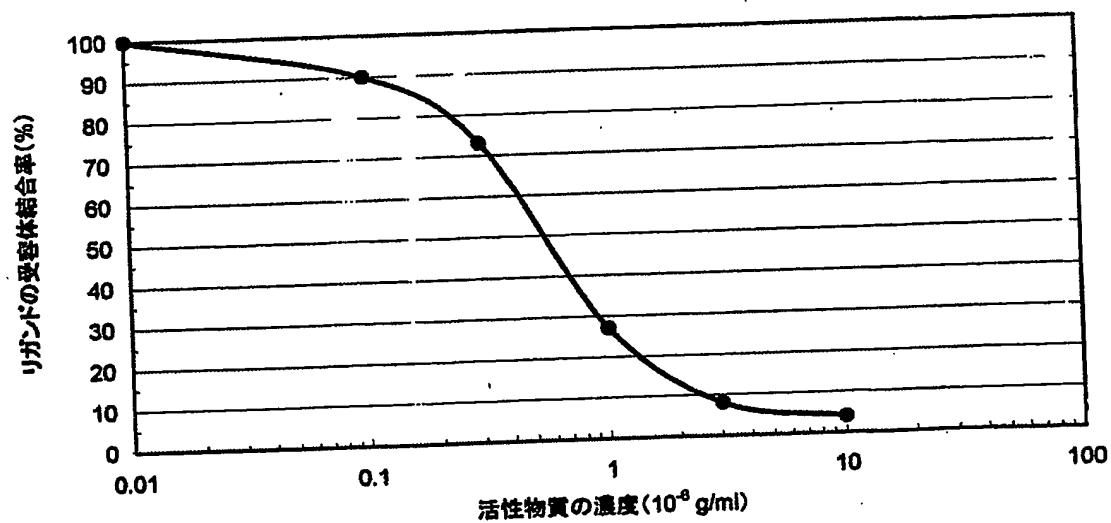
・活性フラクション 1...活性物質  $\alpha$  (4.2mg)

・活性フラクション 2...活性物質  $\beta$  (12.6mg)

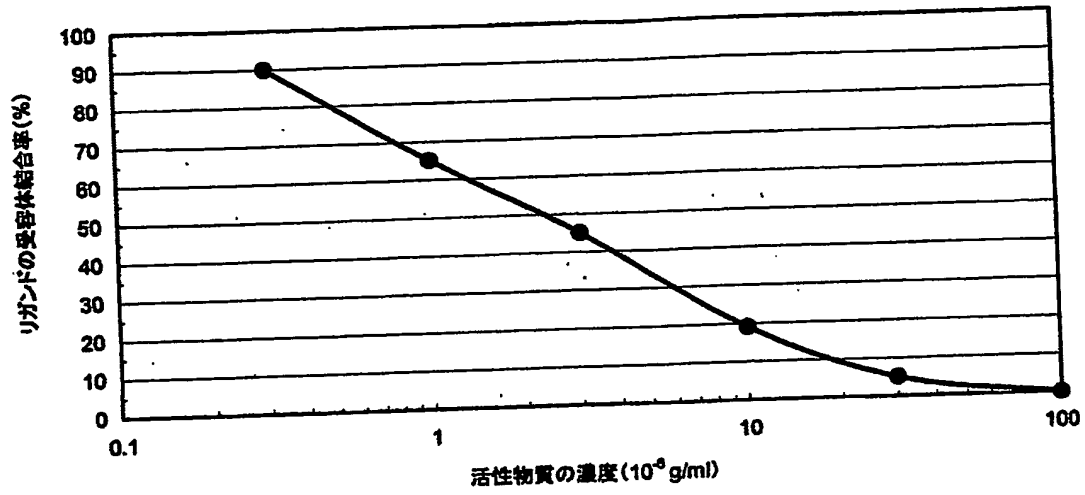
【図 3】



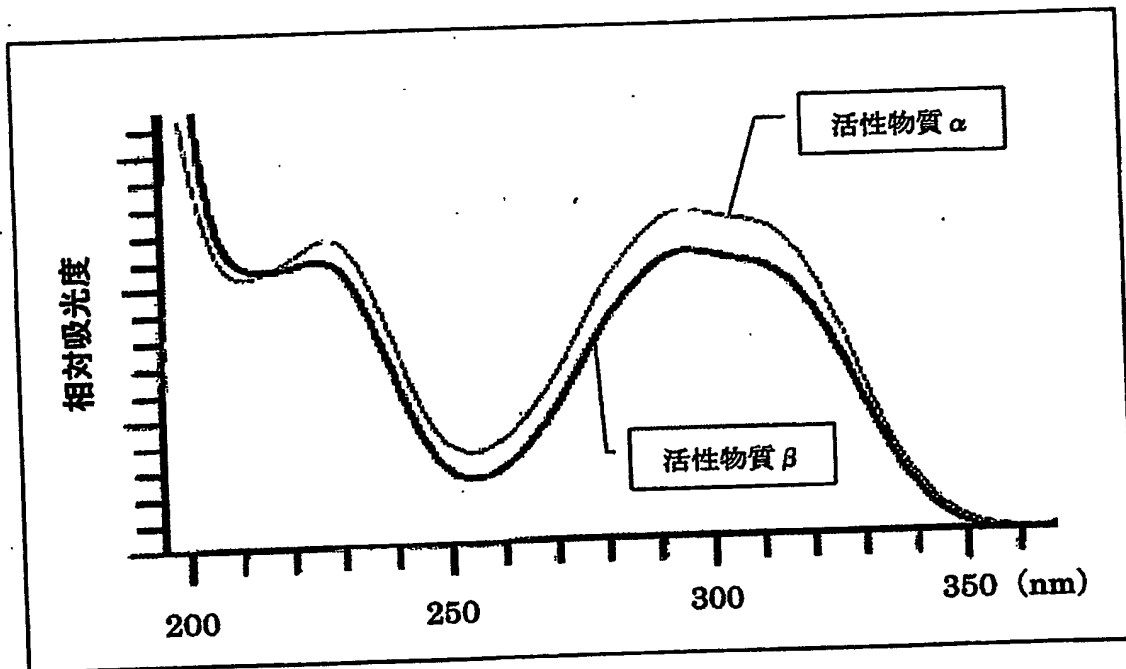
【図 4】



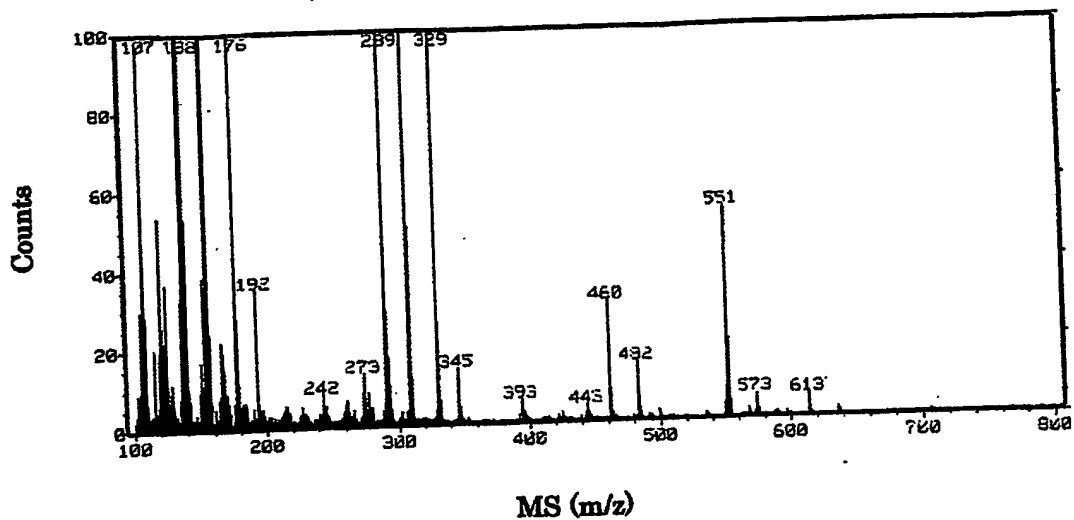
【図 5】



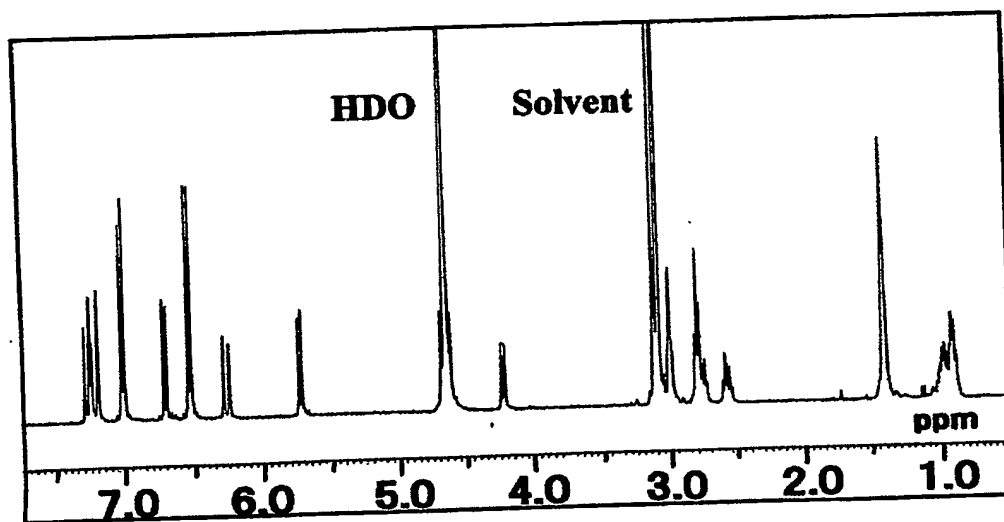
【図 6】



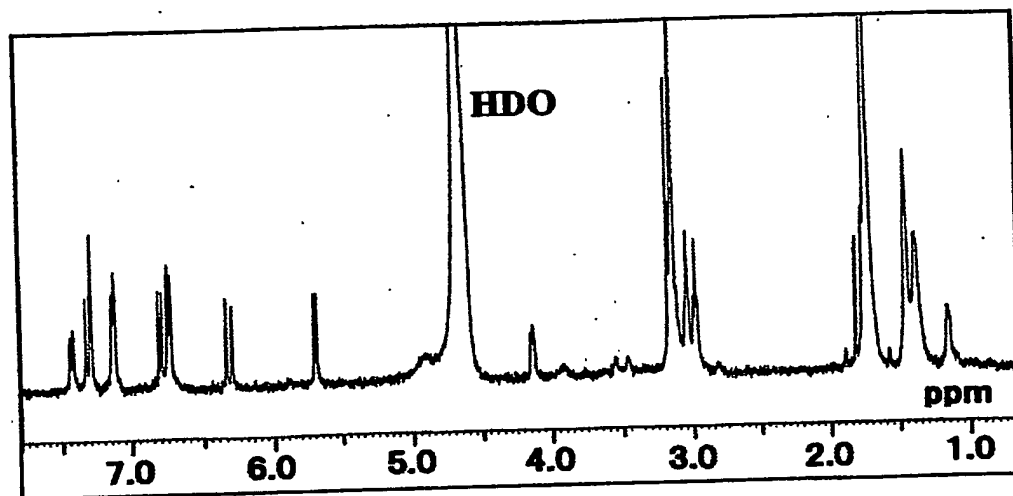
【図7】



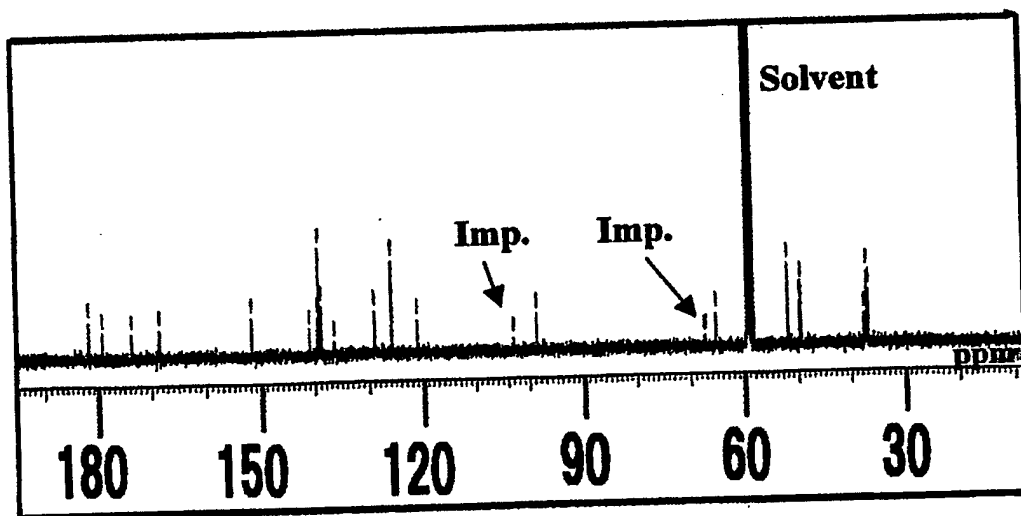
【図8】



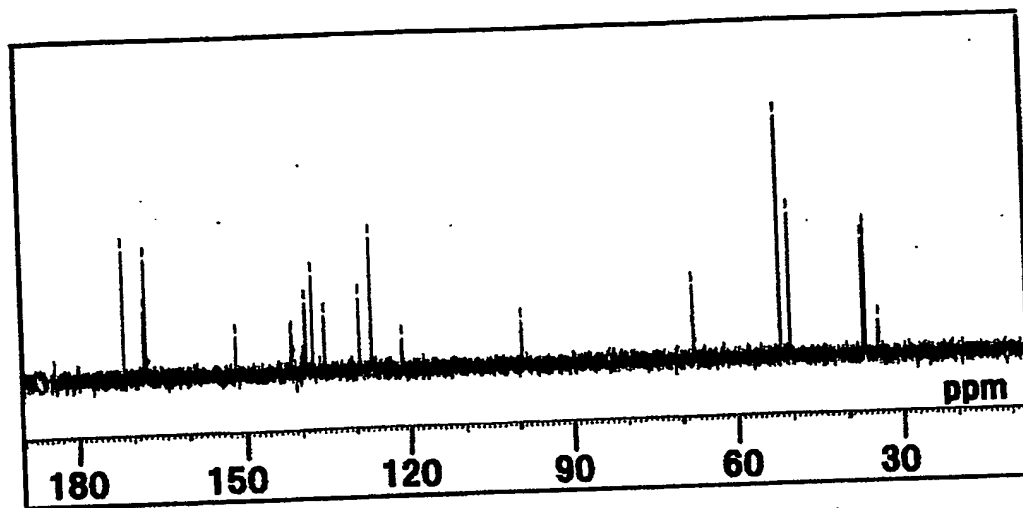
【図9】



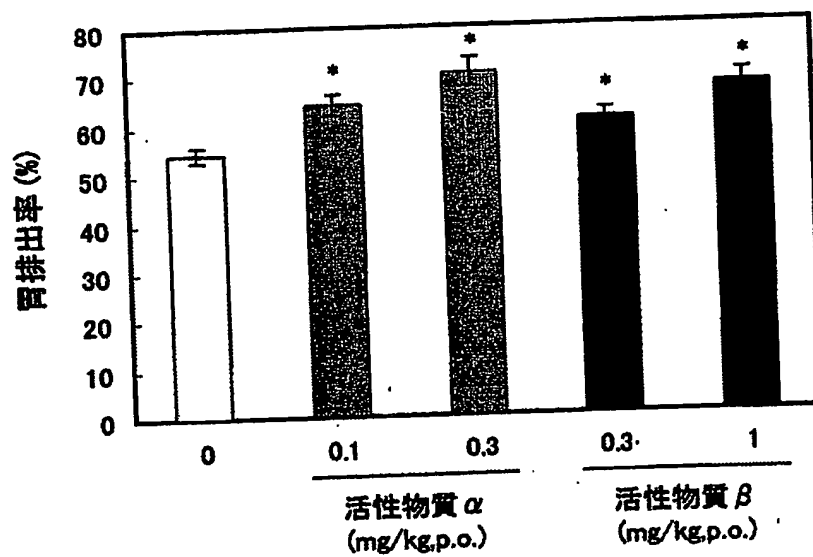
【図10】



【図 1 1】

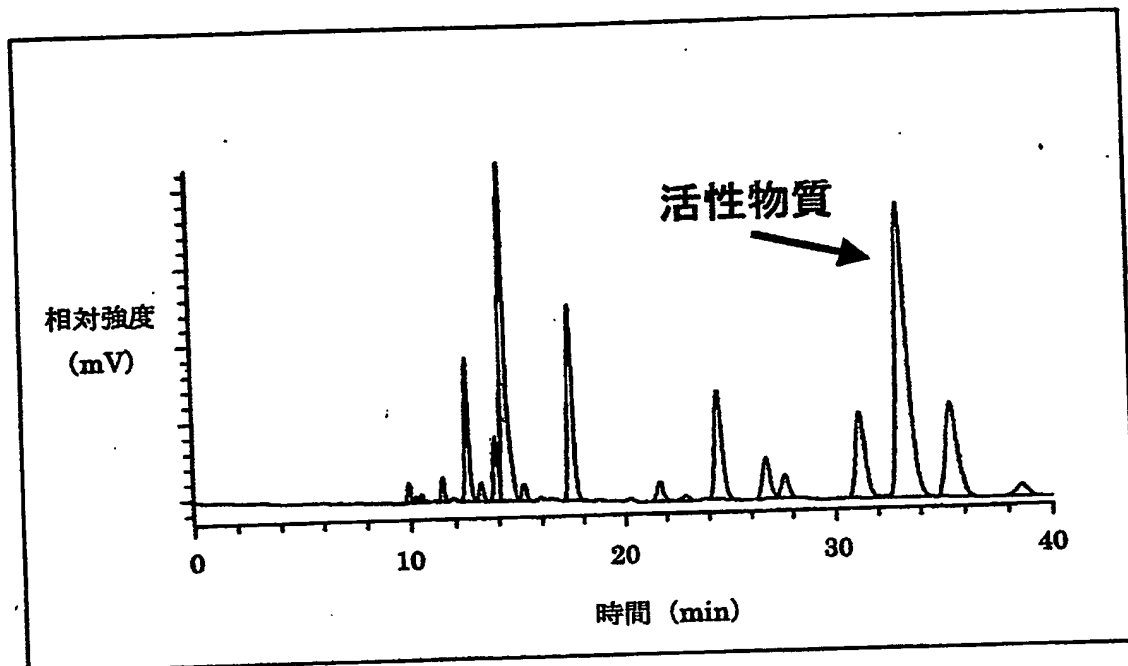


【図 1 2】

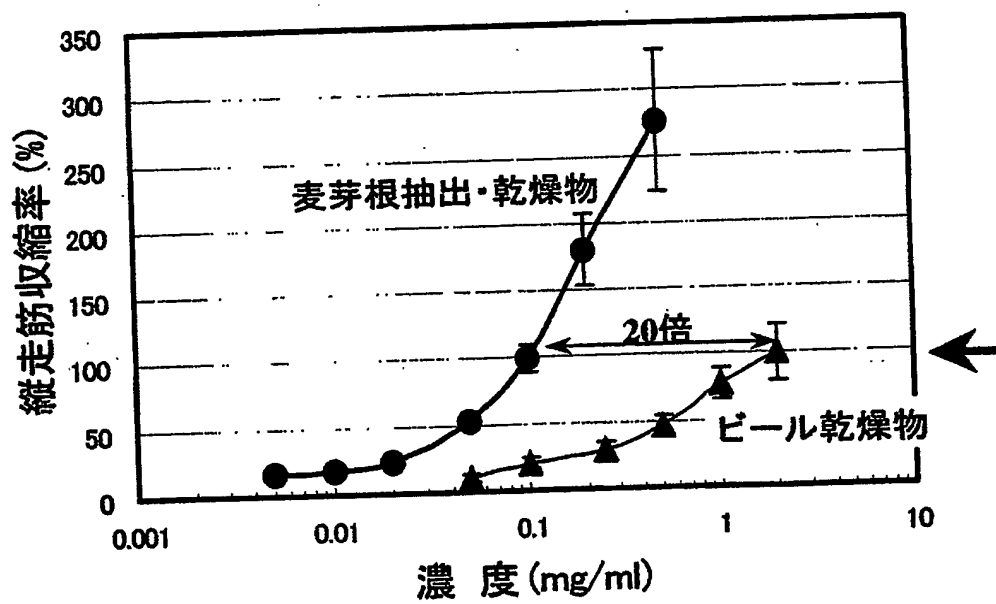




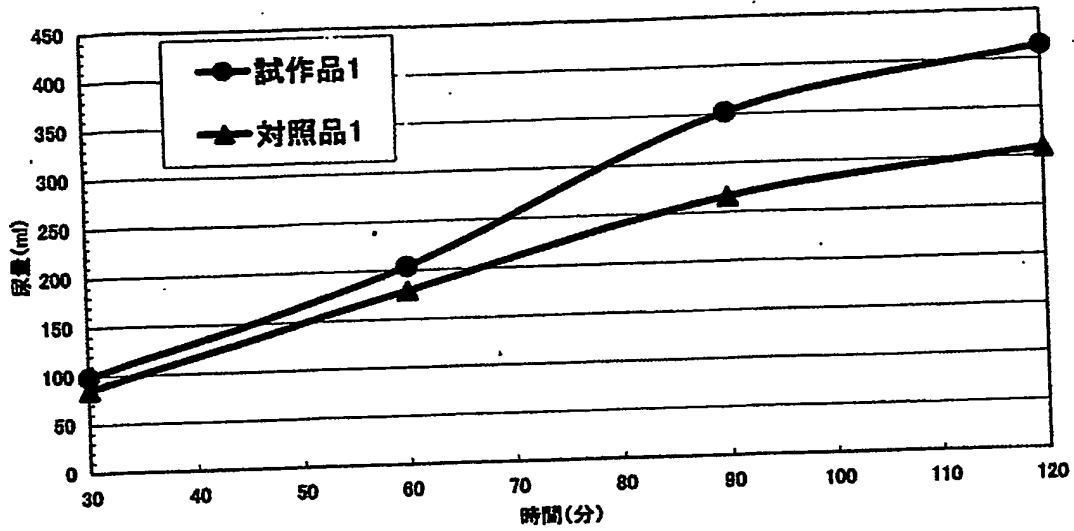
【図13】



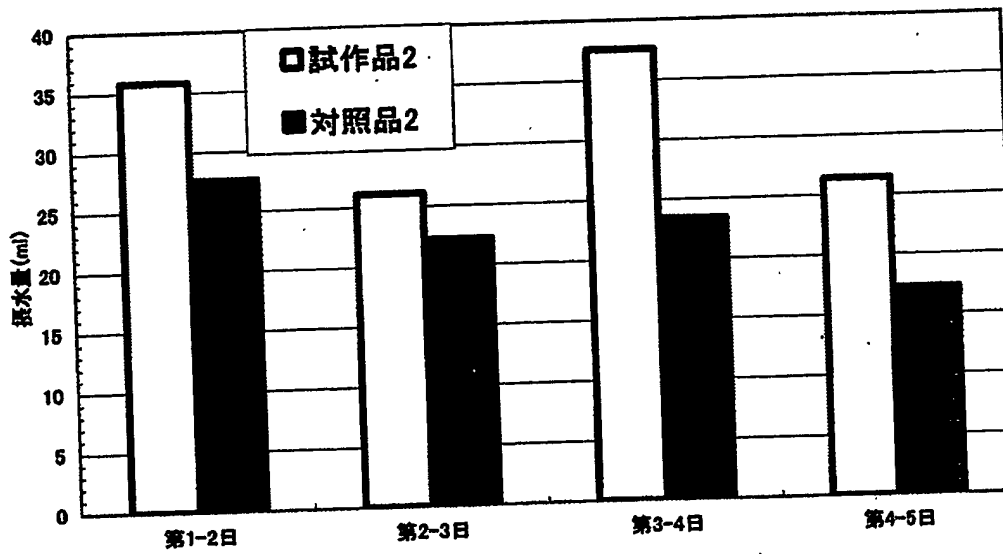
【図14】



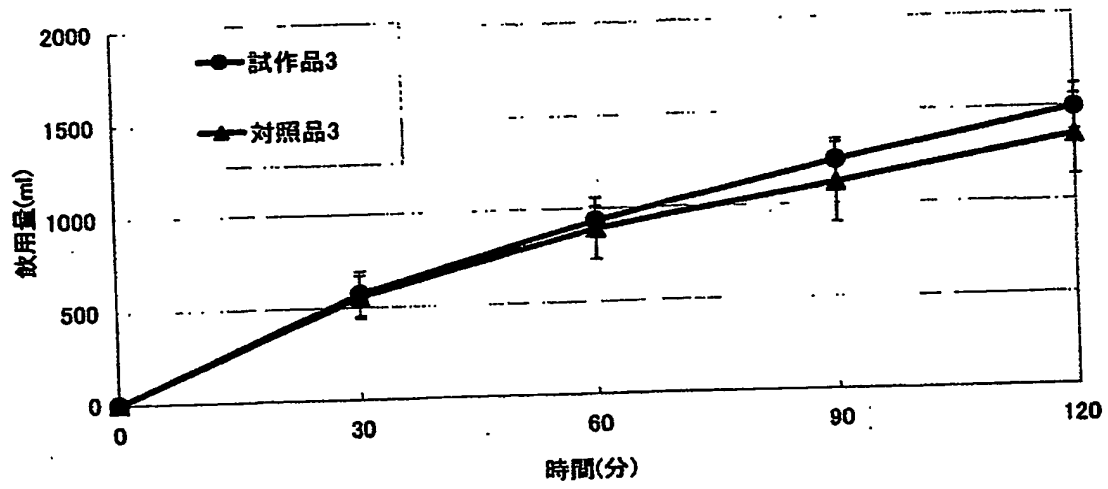
【図 15】



【図 16】



【図17】



【書類名】

要約書

【要約】

【課題】 天然物由来であって、副作用もなく、長期連用においても安全性が高く、飲食物などの添加剤等として広く活用できる消化管運動促進作用物質の提供、ならびに該作用物質を含む添加剤を含有する飲食物の提供。

【解決手段】 ビールから単離・精製して得たムスカリンM<sub>3</sub>受容体に作用する消化管運動促進物質であり、ドリンカビリティー促進作用を有する新規物質であり、またこれら物質を含有する天然物または天然加工品より得た組成物である。これらの物質または組成物を飲食物用の添加剤として活用して、消化管運動促進性の飲食物が提供される。

【選択図】

第12図

認定・付加情報

特許出願の番号

特願2003-010426

受付番号

50300074532

書類名

特許願

担当官

第四担当上席

0093

作成日

平成15年 1月22日

<認定情報・付加情報>

【提出日】

平成15年 1月17日

次頁無

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000001904]

1. 変更年月日 1990年 8月13日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

氏 名 サントリー株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**